

# BEST AVAILABLE COPY

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
23 juin 2005 (23.06.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2005/056828 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12Q 1/68

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2004/003115

(22) Date de dépôt international :  
3 décembre 2004 (03.12.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0314289 5 décembre 2003 (05.12.2003) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : COM-  
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR];

31-33 rue de la Fédération, F-75015 Paris (FR). INSERM  
(Institut National de la Santé et de la Recherche Médi-  
cale) [FR/FR]; 101 rue de Tolbiac, F-75013 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et  
(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : MARCHE,  
Patrice [FR/FR]; 2 allée du Gaillet, F-38240 Meylan (FR).  
JOUVIN-MARCHE, Evelyne [FR/FR]; 2 allée du Gaillet,  
F-38240 Meylan (FR). PASQUAL, Nicolas [FR/FR]; 43  
allée des Romantiques, F-38100 Grenoble (FR).

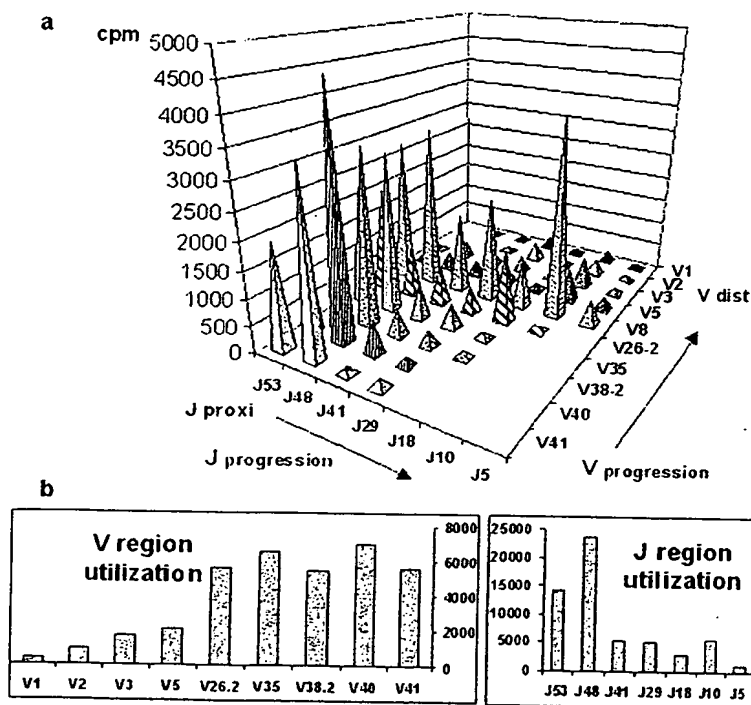
(74) Mandataire : CABINET ORES; 36 rue de St. Péters-  
bourg, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD FOR QUANTITATIVE EVALUATION OF A REARRANGEMENT OR A TARGETED GENETIC RE-  
COMBINATION OF AN INDIVIDUAL AND USES THEREOF

(54) Titre : PROCEDE D'EVALUATION QUANTITATIVE D'UN REARRANGEMENT OU D'UNE RECOMBINAISON GENE-  
TIQUE CIBLEE D'UN INDIVIDU ET SES APPLICATIONS.



(57) Abstract: A method for quan-  
titative evaluation of a rearrangement  
or targeted genetic recombination  
of an individual and the immunity  
repertoire of an individual and the  
uses thereof, particularly in the case  
of follow-up to a treatment or in  
the diagnosis and/or prognosis of  
certain pathologies. Said method  
comprises at least: (a) extraction  
of human genomic DNA from a  
biological sample, (b) amplification  
of a segment of said genomic DNA,  
the size thereof ranging from a few  
hundreds of base pairs and several  
quantities of ten kb by multiplex PCR  
in the presence of: one or several  
couples of primers, and polymerase  
DNA or a polymerase DNA mixture  
enabling the amplification of  
segments of genomic DNA, the  
size thereof ranging from several  
hundreds of base pairs and several  
quantities of ten kb, having a  
corrective effect enabling elongation  
to be substantially improved, said  
amplification also comprising a stage  
of initial denaturation, cycles of  
denaturation, hybridation and elongation and wherein the elongation stages are carried out at least during a period of 10 minutes at  
68 °C-72 °C; (c) separation of the amplified DNAg fragments and (d) detection of the rearranged or recombined segments.

[Suite sur la page suivante]

WO 2005/056828 A1

WO 2005/056828 A1



AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé : Procédé d'évaluation quantitative d'un réarrangement ou d'une recombinaison génétique ciblée d'un individu et notamment du répertoire immunitaire d'un individu et ses applications, notamment dans le suivi d'un traitement ou dans le diagnostic et/ou le pronostic de certaines pathologies. Ledit procédé comprend au moins : (a) l'extraction de l'ADN génomique humain, à partir d'un échantillon biologique, (b) l'amplification d'un segment dudit ADN génomique, de taille comprise entre quelques centaines de paires de bases et plusieurs dizaines de kb, par PCR multiplex, en présence : d'un ou plusieurs couples d'amorces, et d'une ADN polymérase ou d'un mélange d'ADN polymérases permettant l'amplification de segments d'ADN génomique de taille comprise entre quelques centaines de paires de bases et plusieurs dizaines de kb et ayant une activité de correction permettant d'améliorer sensiblement l'élongation ; ladite amplification comprenant outre l'étape de dénaturation initiale, des cycles des cycles de dénaturation, d'extension et de polymérisation ; les étapes d'extension et de polymérisation sont effectuées au moins pendant 10 minutes à 68°C-72°C ; (c)